العدد 44

السّنة الرابعة والخمسون

الأحد 29 شوال عام 1438 هـ

الموافق 23 يوليو سنة 2017 م

الجمهورية الجزائرية
الديمقراطية الشعبية

الجريدة الرسمية

اتفاقات دولية ، قوانين ، ومراسيم
قرارات وآراء ، مقرّرات ، مناشير ، إعلانات وبلاغات

الاشتراك سنوي	الجزائر تونس المغرب ليبيا موريطانيا	بلدان خارج دول المغرب العربي
	سنة	سنة
النّسخة الأصليّة	1090,00 د.ج	2675,00 د.ج
النّسخة الأصليّة وترجمتها	2180,00 د.ج	5350,00 د.ج
		تزاد عليها نفقات الإرسال

الإدارة والتّحرير
الأمانة العامّة للحكومة

WWW.JORADP.DZ

الطّبع والاشتراك
المطبعة الرّسميّة

حي البساتين، بئر مراد رايس، ص.ب 376 – الجزائر – محطة
الهاتف : 021.54.35.06 إلى 09
021.65.64.63
الفاكس 021.54.35.12
ح.ج.ب 50-3200 الجزائر
Télex : 65 180 IMPOF DZ
بنك الفلاحة والتّنمية الرّيفيّة KG 68 060.300.0007
حساب العملة الأجنبيّة للمشتركين خارج الوطن
بنك الفلاحة والتّنمية الرّيفيّة 060.320.0600.12

ثمن النّسخة الأصليّة 14,00 د.ج
ثمن النّسخة الأصليّة وترجمتها 28,00 د.ج
ثمن العدد الصّادر في السّنين السّابقة : حسب التّسعيرة.
وتسلّم الفهارس مجّانا للمشتركين.
المطلوب إرفاق لفيفة إرسال الجريدة الأخيرة سواء لتجديد الاشتراكات أو للاحتجاج أو لتغيير العنوان.
ثمن النّشر على أساس 60,00 د.ج للسّطر.

وزارة التجارة

قرار مؤرخ في 8 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 5 فبراير سنة 2017، يجعل المنهج الأفقي للبحث عن السالمونيلا (salmonella spp) إجباريا.

إنّ وزير التجارة،

– بمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 15–125 المؤرخ في 25 رجب عام 1436 الموافق 14 مايو سنة 2015 والمتضمن تعيين أعضاء الحكومة، المعدل،

– وبمقتضى المرسوم الرئاسي رقم 17–25 المؤرخ في 19 ربيع الثاني عام 1438 الموافق 18 يناير سنة 2017 والمتضمن تكليف وزير السكن والعمران والمدينة بمهام وزير التجارة بالنيابة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990 والمتعلق برقابة الجودة وقمع الغش، المعدل والمتمم، لا سيما المادة 19 منه،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 02–453 المؤرخ في 17 شوال عام 1423 الموافق 21 ديسمبر سنة 2002 الذي يحدد صلاحيات وزير التجارة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 05–465 المؤرخ في 4 ذي القعدة عام 1426 الموافق 6 ديسمبر سنة 2005 والمتعلق بتقييم المطابقة،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 13–328 المؤرخ في 20 ذي القعدة عام 1434 الموافق 26 سبتمبر سنة 2013 الذي يحدد شروط وكيفيات اعتماد المخابر قصد حماية المستهلك وقمع الغش،

– وبمقتضى المرسوم التنفيذي رقم 15–172 المؤرخ في 8 رمضان عام 1436 الموافق 25 يونيو سنة 2015 الذي يحدد الشروط والكيفيات المطبقة في مجال الخصائص الميكروبيولوجية للمواد الغذائية،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 26 رجب عام 1425 الموافق 11 سبتمبر سنة 2004 الذي يجعل منهج تحضير العينات للتجربة والتخفيفات بغرض الفحص الميكروبيولوجي إجباريا،

– وبمقتضى القرار المؤرخ في 28 رجب عام 1435 الموافق 28 مايو سنة 2014 الذي يجعل منهج تحضير العينات والمحلول الأم والتخفيفات العشرية قصد الفحص الميكروبيولوجي إجباريا،

يقرر ما يأتي :

المادة الأولى : تطبيقا لأحكام المادة 19 من المرسوم التنفيذي رقم 90–39 المؤرخ في 3 رجب عام 1410 الموافق 30 يناير سنة 1990، المعدل والمتمم والمذكور أعلاه، يهدف هذا القرار إلى جعل المنهج الأفقي للبحث عن السالمونيلا (salmonella spp) إجباريا.

المادة 2 : من أجل البحث عن السالمونيلا (salmonella spp) تلزم مخابر قمع الغش والمخابر المعتمدة لهذا الغرض باستعمال المنهج المبين في الملحق المرفق بهذا القرار.

يجب أن يستعمل هذا المنهج من طرف المخبر عند الأمر بإجراء خبرة.

المادة 3 : ينشر هذا القرار في الجريدة الرسمية للجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية.

حرر بالجزائر في 8 جمادى الأولى عام 1438 الموافق 5 فبراير سنة 2017.

عبد المجيد تبون

الملحق

منهج أفقي للبحث عن السالمونيلا (Salmonella SPP)

1. مجال التطبيق :

يهدف هذا المنهج إلى تحديد تقنية أفقية للبحث عن السالمونيلا (Salmonella SPP) والتي تشمل سالمونيلا تيفي (Salmonella Typhi) وسالمونيلا باراتيفي (Salmonella Paratyphi).

يطبق هذا المنهج على المواد الموجهة للاستهلاك البشري أو لتغذية الحيوان.

ملاحظة 1 – لا يمكن لهذا المنهج أن يسمح بالعثور على جميع سالمونيلا تيفي وسالمونيلا باراتيفي.

2. المصطلحات والتعاريف :

يقصد في مفهوم هذا المنهج، بالمصطلحات والتعاريف الآتية :

1.2 سالمونيلا :

الأجسام الدقيقة التي تشكل مستعمرات مميزة أو قليلة التميّز في أوساط الانتقاء الصلبة والتي لها الخصائص البيوكيميائية والمصلية التي تظهر عند إجراء التجربة حسب هذا المنهج.

2.2 البحث عن السالمونيلا :

تحديد وجود أو غياب السالمونيلا (1.2) في كمية محددة من المنتوج.

3. المبدأ :

1.3 عموميات :

يحتاج البحث عن السالمونيلا إلى أربع (4) مراحل متتالية (أ : رسم بياني لطريقة العمل).

ملاحظة 2 – يمكن أن تكون السالمونيلا موجودة بعدد صغير وتكون في معظم الأحيان مصحوبة بعدد كبير من الأجسام الدقيقة التي تنتمي إلى عائلة الأنترو بكتریاسي (Enterobacteriaceœ) أو عائلات أخرى.

لذلك فإن إخصاب مسبق وإخصاب انتقائي غالبا ما يكونان ضروريين للبحث عن السالمونيلا التي تكون بعدد ضئيل أو التي خضعت لإتلاف.

2.3 الإخصاب المسبق في وسط سائل غير انتقائي : تزرع عينة التجربة في ماء ببتوني مثبت في درجة حرارة الوسط، ثم تحضن في 37° م ± 1° م لمدة 18 سا ± 2 سا.

بالنسبة لبعض المواد الغذائية (2.1.8) فإن استعمال كيفيات أخرى للإخصاب المسبق يكون ضروريا.

في حالة وجود كميات كبيرة ، من الأحسن تسخين الماء الببتوني المثبت في 37° م ± 1° م قبل زرع عينة التجربة.

3.3 الإخصاب في أوساط انتقائية سائلة :

يزرع الزرع المتحصل عليه في (2.3) في مرق ربابور – فاسيلياديس (Rappaport - vassiliadis) بالصويا (مرق RVS) و في مرق مولر– كوفمان (Muller-Kauffmann) برباعي ثيونات – نوفوبيوسين (Tetrathionate- novobiocine) (MKTTn).

يحضن مرق (RVS) في 41,5° م ± 1° م لمدة 24 سا ± 3 سا ومرق (MKTTn) في 37° م ± 1° م لمدة 24 سا ± 3 سا.

4.3 العزل والتحقق :

يزرع انطلاقا من الزرع المتحصل عليه في (3.3) وسطان انتقائيان صلبان :

– هلام كزيلوز– ليزين ديسوكزيكولات (هلام XLD)،

– وسط انتقائي آخر صلب ملائم يكون من اختيار المخبر، مكمل للوسط الهلامي (XLD) الذي يسمح بالبحث عن سالمونيلا لاكتوز إيجابية، بما في ذلك سالمونيلا تيفي وسالمونيلا باراتيفي.

يحضن الوسط الهلامي (XLD) في 37° م ± 1° م ثم يفحص بعد 24 سا ± 3 سا. يحضن الوسط الانتقائي الثاني حسب توصيات المصنّع.

ملاحظة 3 – يمكن استعمال الوسط الهلامي بالأخضر اللاّمع (BGA; brillant green agar) والوسط الهلامي بسولفيت البسموث و غيرها كوسط ثان للعزل.

5.3 الإثبات :

يُعاد زرع مستعمرات السالمونيلا المفترضة المعزولة في (4.3) ويجرى التحقق بواسطة تجارب بيوكيميائية وتجارب مصلية ملائمة.

4. أوساط الزرع والكواشف والمصل :

1.4 أوساط الزرع والكواشف :

ملاحظة 4 – نظرا للعدد الكبير لأوساط الزرع والكواشف، لوحظ أنه من الأحسن، وذلك لتوضيح أكثر، إعطاء مكوناتها وكيفية تحضيرها في (ب) من هذا المنهج.

1.1.4 وسط الإخصاب المسبق غير انتقائي : ماء ببتوني مثبت (ب – النقطة ب.1).

2.1.4 الوسط الانتقائي الأول للإخصاب : مرق ربابور فاسيلياديس (Rappaport - vassiliadis) بالصويا (مرق RVS) (ب – النقطة ب.2).

3.1.4 الوسط الانتقائي الثاني للإخصاب : مرق مولر – كوفمان (Muller - Kauffmann) برباعي ثيونات النوفوبيوسين (مرق MKTTn) (ب – النقطة ب.3).

4.1.4 أوساط صلبة للعزل والانتقاء:

1.4.1.4 الوسط الأول : هلام بالكزيلوز ليزين ديسوكسيكولات (هلام XLD) (ب – النقطة ب.4).

2.4.1.4 الوسط الثاني :

يترك اختيار الوسط الثاني لمخبر التجارب ومن الأحسن اتباع توصيات المصنّع بدقة فيما يتعلق بتحضير هذا الوسط.

5.1.4 هلام مغذ (ملحق ب – النقطة ب.5).

6.1.4 هلام بسترات الحديد وثلاث سكريات (هلام TSI) (ب – النقطة ب.6).

7.1.4 هلام باليوريا (كريستنسن) (Christensen) (ب – ب.7).

8.1.4 وسط لنزع الكربوكسيل لـ L – ليزين (ب – النقطة ب.8).

9.1.4 كاشف للبحث β- غلاكتوزيداز (أو حلقات من الورق محضرة، تستعمل حسب توصيات المُصّنع) (ب – النقطة ب.9).

10.1.4 كواشف لتفاعل فوج بروسكور (Voges-Proskauer) (تفاعل VP) (ب – النقطة ب.10).

11.1.4 كواشف للبحث عن الأندول (ب – النقطة ب.11).

12.1.4 هلام مغذ نصف صلب (ب – النقطة ب.12).

13.1.4 محلول ملحي فيزيولوجي (ب – النقطة ب.13).

2.4 الأمصال :

أمصال التراص التي تحتوي على أجسام مضادة لعامل أو عدة عوامل مولدة ضد «O» يقصد بها مضادات الأمصال التي تحتوي على مجموعة أو عدة مجموعات «O» (تسمى مضادات المصل «O» أحادي التكافؤ أو متعدد التكافؤ) ومضادات المصل «Vi» ومضادات المصل التي تحتوي على الأجسام المضادة لعامل أو عدة عوامل «H» (تسمى مضادات المصل «H» أحادي التكافؤ أو متعدد التكافؤ).

من الضروري التأكد من أن مضادات الأمصال المستعملة تلائم البحث عن جميع الأنماط المصلية للسالمونيلا. لهذا الغرض، يمكن استعمال مضادات الأمصال المحضرة من طرف مموّن ذي كفاءة معترف بها.

5. التجهيزات والأدوات الزجاجية :

الأجهزة المتداولة في مخبر الميكروبيولوجيا لا سيما، ما يأتي :

1.5 أجهزة التعقيم بالحرارة الجافة (فرن) أو بالحرارة الرطبة (جهاز التعقيم).

2.5 غرفة التجفيف أو جهاز التحضين مزودة بتهوية بحمل حراري مضبوط بين 37° م و55° م.

3.5 جهاز التحضين مضبوط في درجة حرارة 37° م ± 1° م.

4.5 حمام مائي مضبوط في درجة حرارة 41,5° م ± 1° م أو جهاز التحضين مضبوط في درجة حرارة 41,5° م ± 1° م.

5.5 حمامات مائية مضبوطة في درجة حرارة من 44° م إلى 47° م.

6.5 حمام مائي مضبوط في درجة حرارة 37° م ± 1° م.

يوصى باستعمال حمامات مائية [(4.5) و(5.5) و(6.5)] تحتوي على عامل ضد البكتيريا، بما أن الجرعة الملوثة للسالمونيلا ضعيفة.

7.5 مقابض محلقة قطرها حوالي 3 ملم أو 10 ميكرولتر أو مصاصات معقمة.

8.5 جهاز قياس العامل الهيدروجيني (pH) له دقة القياس ± 0,1 وحدة pH في درجة حرارة من 20° م إلى 25° م.

9.5 أنابيب اختبار أو قارورات ذات سعة ملائمة.

يمكن استعمال قارورات أو زجاجة بكبسولات معدنية أو من البلاستيك مزودة بغطاء ملولب غير سام.

10.5 ماصات مدرجة أو ماصات أوتوماتيكية سعتها 10 ملل و1 ملل، مدرجة في 0,5 ملل و0,1 ملل على التوالي.

11.5 علب بتري ذات أبعاد صغيرة (قطرها من 90 ملم إلى 100 ملم) و/أو أبعاد كبيرة (قطرها 140 ملم).

ملاحظة 5 – يمكن استخدام الأدوات ذات الاستعمال الوحيد بنفس الصفة بالنسبة للأدوات الزجاجية المعادة الاستعمال إذا كانت لها نفس الخصائص.

6. اقتطاع العيّنة :

يجب أن تكون العيّنة ممثلة فعلا وغير متلفة أو تغيرت أثناء النقل والتخزين.

7. تحضير العيّنة للتجربة :

تحضر عيّنة التجربة طبقا للمنهج المحدد للمنتوج المعني.

8. طريقة العمل (أ : رسم بياني لطريقة العمل).

1.8 العيّنة المقتطعة للتجربة والمحلول الأم :

1.1.8 عموميات :

لتحضير المحلول الأم، يستعمل عامة وسط الإخصاب الأولي المحدد في (1.1.4) و(2.3) كمخفف.

إذا لم تكن كتلة عينة التجربة المحددة مساوية لـ 25غ، تستعمل الكمية اللازمة لوسط الإخصاب الأولي للحصول على تخفيف لـ 10/1.

عندما يجب فحص أكثر من عينة واحدة مقتطعة للتجربة وزنها 25غ متحصل عليها من حصة محددة لمنتوج غذائي، يمكن خلط جميع عينات التجربة، بشرط أن لا يغير هذا الخليط نتائج التحليل المتعلقة بالأخص بهذا المنتوج الغذائي بالأخص.

مثلا: إذا كنا بصدد فحص 10 عينات التجربة وزنها 25غ، من الممكن جمع الـ 10 وحدات بحيث نحصل على عينة التجربة مكونة من 250غ ونضيف 2,25 ل من مرق الإخصاب الأولي أو جمع الحصص لـ 0,1 ملل (في 10 ملل من مرق (RVS) و لـ 1 ملل (في 10 ملل من مرق (MKTTn) من مرق الإخصاب الأولي الصادرة من الـ 10 عينات التجربة منفصلة (1.3.8) لإخصاب 100ملل من أوساط الإخصاب الانتقائية.

2.1.8 تحضيرات خاصة للمحلول الأم لبعض الأغذية:

1.2.1.8 الكاكاو و المواد التي تحتوي على الكاكاو (على سبيل المثال، أكثر من 20%) :

يضاف إلى الماء الببتوني المثبت(1.1.4) من الأحسن 50غ/ل من الكازيين (يتجنب استعمال الكازيين الحامضي) أو 100غ/ل من مسحوق الحليب المنزوع الدسم ويضاف بعد حوالي ساعتين من التحضين، 0,018غ/ل من الأخضر اللاّمع إذا كان هناك احتمال تلوث كبير للمنتوج ببكتيريا غرام إيجابي **(Gram positif)**

2.2.1.8 الأغذية الحمضية و المحمضة:

يتأكد من أن قيمة العامل الهيدروجيني (pH) لا تقل عن 4,5 أثناء الإخصاب الأولي.

ملاحظة 6 – يكون العامل الهيدروجيني(pH) للأغذية الحمضية والمحمضة أكثر استقرارا عندما يستعمل الماء الببتوني المثبت مضاعف المعايرة.

2.8 الإخصاب الأولي غير الانتقائي:

يحضن محلول الأم (1,8) في درجة حرارة 37° م ± 1° م لمدة 18سا ± 2سا.

3.8 الإخصاب الانتقائي:

1.3.8. ينقل 0,1 ملل من الزرع المتحصل عليه في (2,8) في أنبوب يحتوي على 10 ملل من مرق (RVS) (2.1.4) وينقل كذلك 1ملل من الزرع المتحصل عليه في (2,8) في أنبوب يحتوي على 10 ملل من مرق (MKTTn) (3.1.4).

2.3.8 يحضن مرق(RVS) المزروع (1.3.8) في درجة حرارة 41,5 °م ± 1 °م لمدة 24 سا ± 3سا ومرق (MKTTn) في درجة حرارة 37 °م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا. من الأحسن التأكد من أن درجة الحرارة القصوى للتحضين لا تتعدى في أي حال 42,5 °م بالنسبة لمرق (RSV).

4.8 العزل والتحقق :

1.4.8 انطلاقا من الزرع المتحصل عليه في المرق RVS (2.3.8) بعد 24 سا ± 3 سا من التحضين، يزرع بواسطة مقبض (7.5) سطح علبة بتري كبيرة (11.5) تحتوي على وسط العزل انتقائي [هلام XLD ،(1.4.1.4)] بحيث يُسمح للمستعمرات المعزولة جيدا بالتكاثر.

في حالة عدم توفر علب كبيرة ، تستعمل علبتين صغيرتين، الواحدة تلو الأخرى، باستعمال نفس المقبض.

يتم إجراء وسط العزل الانتقائي الثاني (2.4.1.4) بنفس الطريقة باستعمال مقبض جديد وعلب بيتري ذات أبعاد ملائمة.

2.4.8 انطلاقا من الزرع المتحصل عليه في المرق MKTTn (2.3.8) بعد 24 سا ± 3 سا من التحضين، تعاد نفس العمليات المبيّنة في (1.4.8) مع وسطي العزل الانتقائيين.

3.4.8 في حالة وسط العزل الأول (1.4.1.4) تقلب العلب [(1.4.8) و(2.4.8)] توضع في جهاز التحضين (3.5) مضبوطا في37 °م. بالنسبة لوسط العزل الثاني (2.4.1.4) مع إتباع توصيات المصنّع.

4.4.8 بعد 24 سا ± 3 سا من التحضين، تفحص العلب (3.4.8) للبحث عن وجود مستعمرات مميزة للسالمونيلا، وكذلك المستعمرات غير المميزة والمحتمل أن تكون سالمونيلا (الملاحظة 7) .تعلّم وضعيتها على الجهة السفلية للعلبة.

المستعمرات المميزة للسالمونيلا المزروعة فوق هلام (XLD) لها مركز أسود ومحاطة بهالة حمراء شفافة و واضحة ناتجة عن تغير الكاشف الموجود في الوسط.

ملاحظة 7– تكون السالمونيلا H_2S سلبي (على سبيل المثال سالمونيلا باراتيفي A) المزروعة فوق هلام (XLD)، وردية اللون مع مركز وردي داكن وتكون السالمونيلا لاكتوز إيجابي المزروعة فوق هلام (XLD) صفراء و بدون اسوداد.

يحضن الوسط الانتقائي الثاني في درجة حرارة ومدة ملائمتين ثم يفحص وجود المستعمرات التي يمكن أن تعتبر حسب مميزاتها، سالمونيلا مفترضة.

5.8 الإثبات

1.5.8 عموميات :

لتحديد السالمونيلا يمكن استعمال طقم (kits) للتحديد البيوكيميائي للمستعمرات. من الأحسن استعمال هذا الطقم (kits) طبقا لتعليمات المصنّع.

ملاحظة 8 – يمكن أن يتغير مظهر مستعمرات السالمونيلا في بعض الأحيان ليس فقط من نوع إلى آخر بل كذلك من حصة وسط الزرع إلى أخرى.

2.5.8 اختيار المستعمرات للإثبات :

للإثبات يُؤخذ من كل علبة (علبتين ذات أبعاد صغيرة أو علبة ذات أبعاد كبيرة) و من كل وسط انتقائي (4.8) مستعمرة واحدة على الأقل مميزة أو مشكوك فيها، ثم أربع مستعمرات أخرى إذا ثبت أن الأولى كانت سلبية.

في حالة الدراسات الوبائية، ينصح بتحديد خمس مستعمرات على الأقل. إذا وجد أن إحدى العلب تحتوي على أقل من خمس (05) مستعمرات مميزة أو مشكوك فيها، تؤخذ بعين الاعتبار جميع المستعمرات المميزة أو المشكوك فيها.

تزرع المستعمرات المنتقاة على سطح علب الوسط الهلامي المغذي (5.1.4) المجففة مسبقا، بطريقة تسمح لتكاثر المستعمرات بشكل معزول جيدا. تحضن هذه العلب المزروعة (3.4.8) في 37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا. يستعمل الزرع النقي للإثبات البيوكيميائي والمصلي.

3.5.8 الإثبات البيوكيميائي :

1.3.5.8 عموميات :

بواسطة سلك الزرع، تزرع الأوساط المحددة في [(2.3.5.8) إلى (7.3.5.8)] بكل زرع متحصل عليه انطلاقا من المستعمرات المتحصل عليها في (2.5.8).

2.3.5.8 هلام TSI (6 .1.4) :

تزرع الجهة المائلة للوسط على شكل خطوط والقاعدة بالغرز. تحضن في37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا. تفسر الظواهر التي تحدث بالشكل الآتي :

أ) القاعدة – صفراء.....غلوكوز إيجابي (استخدام الغلوكوز) – حمراء أو دون تغيير.....غلوكوز سلبي (عدم استخدام الغلوكوز) – سوداء..... تشكل سلفور الهيدروجين – فقاعات أو تشققات..... تشكل غازا انطلاقا من الغلوكوز
ب) الجهة المائلة للهلام. – صفراء.....لاكتوز و/ أو سكاروز إيجابي (استخدام اللاكتوز و/أو السكاروز). – حمراء أو دون تغيير.....لاكتوز وسكاروز سلبي (عدم استخدام اللاكتوز ولا السكاروز)

يظهر الزرع المميز للسالمونيلا بجهة مائلة قلوية (حمراء) وقاعدة حامضية (صفراء) مع تشكل الغاز (فقاعات) و(في حوالي 90 % من الحالات) تشكل سلفور الهيدروجين (اسوداد الهلام) جدول (1).

عندما نعزل سالمونيلا لاكتوز إيجابي (4.3) كون الجهة المائلة لهلام TSI صفراء. وعليه، يجب ألا يكون الإثبات الأولي للسالمونيلا مؤسسا فقط على النتائج المتحصل عليها انطلاقا من هلام TSI (2.3.5.8).

3.3.5.8 هلام باليوريا (7.1.4) :

تزرع الجهة المائلة للهلام على شكل خطوط. تحضن في درجة الحرارة 37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا وتفحص من وقت لآخر.

في حالة تفاعل إيجابي، ينتج عن تحلل اليوريا تحرير الأمونياك، الذي يحوّل أحمر الفينول إلى الوردي ثم إلى الأحمر الداكن. يظهر هذا التفاعل غالبا في مدة ساعتين (2) إلى أربع (4) ساعات.

4.3.5.8 وسط نزع الكربوكسيل لـ L–ليزين (8.1.4):

يزرع الوسط السائل تحت السطح مباشرة. يحضن 37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا.

يدّل ظهور تعكر ولون بنفسجي بعد التحضين على تفاعل إيجابي ويدّل ظهور لون أصفر على تفاعل سلبي.

5.3.5.8 البحث عن - β فلاكتوزيداز (β-galactosidase) (9.1.4) :

يوضع على شكل محلول معلق مقبض يحمل مستعمرة مشكوك فيها في أنبوب يحتوي على 0,25 ملل من المحلول الملحي (13.1.4).

تضاف قطرة واحدة (1) من التولوين (toluène) ويرج الأنبوب. يوضع هذا الأخير في حمام مائي (6,5) مضبوط في 37 °م ويبقى لبعض الدقائق (حوالي 5 دقائق). يضاف 0,25 ملل من كاشف البحث عن β- غلاكتوزيداز ويمزج.

يعاد الأنبوب إلى الحمام المائي مضبوط في 37° م، ويترك لمدة 24 سا ± 3 سا ويفحص من وقت لآخر.

يدل اللّون الأصفر على تفاعل إيجابي. يظهر التفاعل غالبا في مدة 20 دقيقة.

في حالة استعمال أقراص من ورق محضرة (9.1.4) تتبع تعليمات المُصنّع.

6.3.5.8 وسط لتفاعل فوج بروسكور (Voges-Proskauer) (VP) (10.1.4) :

يوضع في شكل محلول معلق مقبض يحمل مستعمرة مشكوك فيها في أنبوب معقم يحتوي على 3ملل من وسط (VP).

يحضن في 37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا.

بعد التحضين، تضاف قطرتان (2) من محلول الكرياتين وثلاث (3) قطرات من المحلول الإثانولي نفتول – 1 ثم قطرتان (2) من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم وترج بعد إضافة كل كاشف.

يدل تشكل لون وردي إلى أحمر لامع في مدة 15 دقيقة على تفاعل إيجابي.

7.3.5.8 وسط للبحث عن الأندول (11.1.4) :

يزرع أنبوب يحتوي على 5 ملل من وسط تريبتون / تريبوتوفان بالمستعمرة المشكوك فيها ويحضن في 37°م ± 1°م لمدة 24 سا ± 3 سا. بعد التحضين، يضاف 1 ملل من كاشف كوفاكس (Kovacs).

يدّل تشكل حلقة حمراء على تفاعل إيجابي. ويدّل تشكل حلقة صفراء – مسمرة على تفاعل سلبي.

8.3.5.8 تفسير النتائج البيوكيميائية :

تعطي السالمونيلا عموما تفاعلات مبينة في الجدول 1.

الجدول 1 : تفسير التجارب البيوكيميائية.

تجارب [(2.3.5.8) إلى(7.3.5.8)]	سلالة السالمونيلا							
	سلامونيلا تيفي		سلامونيلا باراتيفيA		سلامونيلا باراتيفيB	سلامونيلا باراتيفيC	سلالات أخرى	
	تفاعل	% أ	تفاعل	% أ	تفاعل	تفاعل	تفاعل	% أ
غلكوز ،TSI (تشكيل الحمض)	+	100	+	100	+	+	+	100
غلكوز ،TSI (تشكيل الغاز)	– ب	0	+	100	+	+	+	92
لاكتوز ،TSI (تشكيل الحمض)	–	2	–	100	–	–	–	1
ساكوز ،TSI (تشكيل الحمض)	–	0	–	0	–	–	–	1
سولفور الهيدروجين، TSI	+	97	–	10	+	+	+	92
تمييه اليوريا	–	0	–	0	–	–	–	1
نزع الكربوكسيل لليزين	+	98	–	0	+	+	+	95
تفاعل مع B غلا كتوزيداز	–	0	–	0	–	–	–	2ج
تفاعل فوج بروسكور (Voges-Proskauer)	–	0	–	0	–	–	–	0
البحث عن الأندول	–	0	–	0	–	–	–	1

أ: تدل هذه النسب المئوية فقط على أن جميع سلالات السالمونيلا لا تعطي تفاعلات مسجلة بـ + أو – يمكن أن تتغير هذه النسب المئوية بالنسبة لنفس النوع المصلي كذلك من نوع مصلي لآخر بالنسبة للأنواع المصلية التي سببت تسممات غذائية بأماكن مختلفة،

ب : سالمونيلا تيفي لا تشكل غاز،

ج : تعطي السالمونيلا أنتيريكا Salmonella enterica من نوع أريزونا arizonae تفاعلات لاكتوز إيجابية أو سلبية لكن تكون دائما B–غلاكتوزيداز إيجابية. لدراسة هذه السلالات، فمن الأحسن إجراء تجارب بيوكيميائية مكملة،

4.5.8 إثبات مصلي و نمط مصلي:

1.4.5.8 عموميات:

يجرى البحث عن مولد الضد «O»، «Vi»،أو«H» للسالمونيلا بالتراص فوق صفيحة مع أمصال ملائمة انطلاقا من مستعمرات نقية (2.5.8) بعد التخلص من السلالات المتراصة ذاتيا.

2.4.5.8 التخلص من السلالات المتراصة ذاتيا:

توضع قطرة واحدة(1) من المحلول الملحي (13.1.4) فوق صحيفة زجاجية جد نظيفة. بواسطة مقبض حلقي (7.5) يوزع فوق تلك القطرة جزء من المستعمرة المراد تحليلها بطريقة يتحصل فيها على محلول متجانس وعكر.

ملاحظة 9 - من الممكن أيضا توزيع جزء من المستعمرة المراد تحليلها في قطرة من الماء ، ثم يخلط هذا المحلول مع قطرة من المحلول الملحي (13.1.4).

ترّجح الصفيحة لمدة 30 ثا إلى 60 ثا. تلاحظ النتيجة فوق قاع أسود ومن الأحسن بواسطة عدسة مكبرة.

إذا تجمعت البكتيريا على شكل كتل متميزة نوعا ما، تعتبر السلالة كأنها متراصة ذاتيا ولا يجب أن تخضع للتحاليل التالية وبهذا يصبح البحث عن مولدات الضد غير ممكن.

3.4.5.8 البحث عن مولدات الضد «O» :

انطلاقا من مستعمرة نقية معروفة أنها غير متراصة ذاتيا، تُجرى العملية كما هو مبين في (2.4.5.8) لكن باستعمال قطرة واحدة (1) من مضاد المصل «O» (2.4) بدلا عن المحلول الملحي (13.1.4).

يعتبر التفاعل إيجابيا، إذا كان هناك تراص.

تستعمل الأمصال المتعددة التكافؤ و وحيدة التكافؤ الواحد تلو الآخر.

4.4.5.8 إظهار مولدات الضد «Vi» :

تجرى العملية كما هو مبيّن في (2.4.5.8) لكن باستعمال قطرة واحدة (1) من مضاد المصل Vi (2.4) بدلا من المحلول الملحي.

يعتبر التفاعل إيجابيا، إذا كان هناك تراص.

5.4.5.8 إظهار مولدات الضد «H» :

يزرع الوسط الهلامي المغذي النصف الصلب (12.1.4) بمستعمرة نقية غير متراصة ذاتيا. يحضن في 37 °م ± 1 °م لمدة 24 سا ± 3 سا.

يستعمل هذا الزرع لفحص مولدات الضد «H» وتجرى العملية كما هو مبيّن في (2.4.5.8) لكن باستعمال قطرة واحدة من مولد الضد «H» (2.4) بدلا من المحلول الملحي.

يعتبر التفاعل إيجابيا، إذا كان هناك تراص.

5.5.8 تفسير التفاعلات البيوكيميائية والمصلية : يعطي الجدول 2 تفسير تجارب الإثبات [(3.5.8) و(4.5.8)] التي أجريت على المستعمرات المأخوذة بعين الاعتبار (2.5.8).

6.5.8 الإثبات النهائي :

يجب أن ترسل السلالات التي تعتبر أنها سالمونيلا أو يمكنها أن تكون سالمونيلا (جدول 2) إلى مركز معتمد للكشف عن السالمونيلا قصد التحديد النهائي للمصل مع مرافقتها بالمعلومات المتعلقة بهذه السلالات.

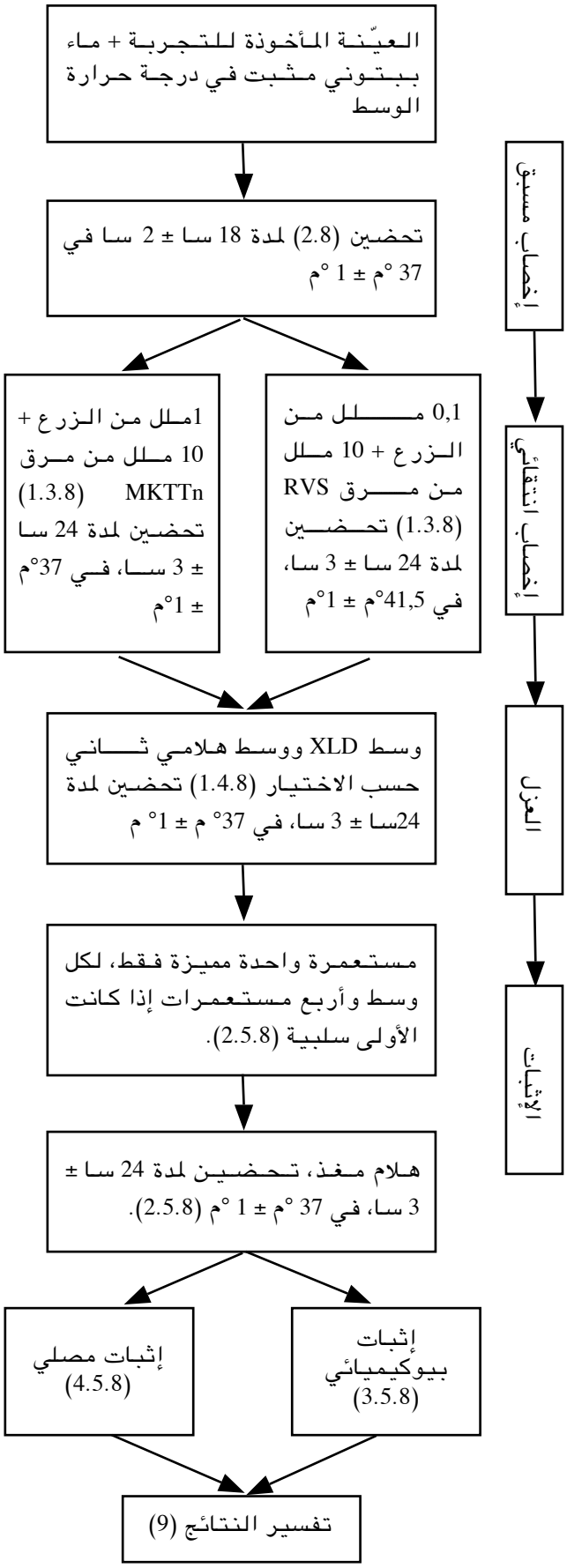
9 التعبير عن النتائج :

حسب نتائج التفسير يحدد وجود أو غياب السالمونيلا في عينة التجربة لـ xغ أو x ملل من المنتوج.

الجدول 2 – تفسير تجارب الإثبات

تفاعلات بيوكيميائية	تراص ذاتي	تفاعلات مصلية	التفسير
متميزة	لا	مولدات الضد، «O» « Vi» أو «H» إيجابية	سلالات تعتبر كأنها سالمونيلا
متميزة	لا	جميع التفاعلات سلبية	يمكن أن تكون سالمونيلا
متميزة	نعم	غير مجرات (2.4.5.9)	
لاتوجد تفاعلات متميزة	نعم / لا	مولدات الضد، «O» « Vi» أو «H» إيجابية	
لاتوجد تفاعلات متميزة	نعم / لا	جميع التفاعلات سلبية	لاتعتبر كأنها سالمونيلا

أ- رسم بياني لطريقة العمل



ب : تركيب وتحضير أوساط الزرع والكواشف

ب. 1 ماء ببتوني مثبت :

ب 1.1 التركيب :

عصارة إنزيمية للكازيين	10غ
كلورور الصوديوم	5غ
ثنائي الصوديوم هيدروجينو فوسفات دوديكا هيدراتي ($Na_2HPO_4,12H_2O$)	9 غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4)	1,5غ
ماء	1000ملل

ب . 2.1.التحضير :

تذوّب المكونات في الماء بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 7 ± 0,2 في 25 °م بعد التعقيم.

يوزع الوسط بالكميات اللازمة للتحليل في قارورات سعتها مناسبة (9.5).

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في درجة حرارة 121 °م لمدة 15 دقيقة.

ب.2. مرق ربابور فاسيلياديس (Rappaport-vassiliadis) بالصويا : (مرق RSV)

ب. 1.2محلول أ :

ب. 1.1.2 التركيب:

عصارة أنزيمية للصويا	5غ
كلورور الصوديوم	8غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4)	1,4غ
ثنائي البوتاسيوم هيدروجينوفوسفات (K_2HPO_4)	0,2غ
ماء	1000ملل

ب. 2.1.2 التحضير:

تذوّب المكوّنات في الماء بالتسخين في درجة حرارة حوالي 70 °م، إذا اقتضى الأمر.

يجب أن يحضر المحلول في نفس يوم تحضير وسط (RVS).

ب. 2.2 محلول ب:

ب .1.2.2 التركيب:

كلورور المغنزيوم سداسي التمييه ($MgCl_2,6H_2O$).....400غ
ماء.....1000ملل

ب.2.2.2 التحضير:

يذوّب كلورور المغنزيوم في الماء.

نظرا للإسترطابية القوّية للملح، ينصح بتذويب كل المركب($MgCl_2,6H_2O$) الموجود في وعاء مفتوح حديثا طبقا لمعادلة التركيب المذكور أعلاه. مثال: تضاف 250غ من ($MgCl_2,6H_2O$) لـ 625 ملل من الماء لتعطي محلول حجمه النهائي يساوي 788 ملل وتركيز كتلي بحوالي 31,7غ لـ 100 ملل من ($MgCl_2,6H_2O$).

يمكن حفظ هذا المحلول في وعاء من الزجاج الداكن في درجة حرارة الوسط لمدة عامين(2) على الأكثر.

ب .3.2 محلول ج :

ب .1.3.2 التركيب :

أوكزلات أخضر الملاشيت 0,4غ
ماء.....100ملل

ب2.3.2 التحضير:

يذوّب أوكزلات أخضر الملاشيت في الماء.

يمكن حفظ هذا المحلول في وعاء من الزجاج الداكن، في درجة حرارة الوسط لمدة ثمانية(8) أشهر على الأكثر.

ب .4.2 وسط كامل:

ب. 1.4.2 التركيب:

محلول أ (ب.1.2).....1000ملل
محلول ب(ب.2.2) 100ملل
محلول ج (ب.3.2) 10ملل

ب. 2.4.2 التحضير:

يضاف لـ 1000ملل من المحلول أ، 100ملل من المحلول ب و 10ملل من المحلول ج.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH)، إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 5,2 ± 0,2 بعد التعقيم .

يوزع في أنابيب اختبار(9.5) بكميات تقدر بـ 10ملل قبل الاستعمال.

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 115° م لمدة 15 دقيقة.

يُحفظ بهذا الوسط المحضر في 3° م ± 2° م ويستعمل يوم تحضيره.

تكون التركيبة النهائية للوسط كالآتي :

- عصارة أنزيمية للصويا 4,5غ/ل
- كلورور الصوديوم..... 7,2غ/ل
- ثنائي هيدروجينوفوسفات البوتاسيوم ($KH_2PO_4+K_2HPO_4$) 1,44غ/ل
- كلورور المغنزيوم عديم الماء ($MgCl_2$)..... 13,4غ/ل
- أو كلورور المغنزيوم سداسي التمية ($MgCl_2,6H_2O$).....28,6غ/ل
- أوكزلات أخضر الملاشيت..... 0,036غ/ل

ب.3 مرق مولر كوفمان برنامي ثيونات – نوفوبيوسين
Muller - kauffmann au tétrathionate - novobiocine (MKTTn)

ب. 1.3 الوسط الأساسي :

ب. 1.1.3 التركيب :

مستخلص اللحم.....4,3غ
عصارة أنزيمية للكازين.....8,6غ
كلورور الصوديوم (NaCl)..... 2,6غ
كربونات الكالسيوم ($CaCO_3$) 38,7غ
ثيوسلفات الصوديوم خماسي التمييه ($Na_2S_2O_3,5H_2O$).....47,8غ
أملاح صفراوية للاستعمال البكتريولوجي.....4,78غ
الأخضر اللامع..... 9,6ملغ
ماء.....1000ملل

ب.2.1.3 التحضير :

تذوب المكونات الأساسية المجففة أو الوسط الكامل المجفف في الماء، وتوضع للغليان لمدة 5 دقائق.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، في 8 ± 0,2 وفي 25 °م ويجانس الوسط جيدا.

يحفظ وسط الأساس لمدة 4 أسابيع في 3° م ± 2° م.

ب. 2.3 محلول اليودو– اليودوري :

ب. 1.2.3 التركيب :

اليود.....20غ
يودور البوتاسيوم (KI).....25غ
ماء.....100ملل

ب.2.2.3. التحضير:

يذوّب يودور البوتاسيوم كليا في 10 ملل من الماء، ثم يضاف اليود ويكمل بالماء المقطر حتى 100ملل. لا يسخن هذا المحلول.

يحفظ المحلول المحضر بهذه الطريقة في درجة حرارة الوسط في وعاء غير نفوذ.

ب. 3.3 محلول النفوبيوسين

ب. 1.3.3 التركيب :

ملح أحادي الصوديوم النفوبيوسين.....0,04غ
ماء..... 5 ملل

ب. 2.3.3 التحضير:

يذوّب ملح أحادي الصوديوم النفوبيوسين في الماء ويعقم بالترشيح.

يحفظ هذا المحلول حتى أربعة (4) أسابيع في 3° م ± 2° م.

ب. 4.3 الوسط الكامل :

ب. 1.4.3 التركيب :

وسط الأساس (ب.3. 1).....1000ملل
محلول يود اليودوري (ب.2.3)..... 20ملل
محلول النفوبيوسين (ب.3.3).....5 ملل

ب. 2.4.3 التحضير :

يضاف بطريقة معقمة 5 ملل من محلول النفوبيوسين (ب.3.3) لـ 1000 ملل من وسط الأساس(ب.1.3) يمزج ثم يضاف 20 ملل من محلول اليودو- اليودوري (ب.2.3) ويجانس الكل.

يوزع الوسط بطريقة معقمة في أنابيب معقمة ذات سعة ملائمة (9.5) لغرض التحليل. يجب أن يستعمل الوسط الكامل يوم تحضيره.

ب. 4 هلام كزيلوز ليزين ديسوكسيكولات (هلام XLD)

ب. 1.4 الوسط الأساسي :

ب. 1.1.4 التركيب :

مستخلص الخميرة على شكل مسحوق..... 3غ
كلورور الصوديوم (NaCl) 5غ
كزيلوز..... 3,75غ
لاكتوز.....7, 5غ
ساكاروز.....7,5غ
هيدروكلورور L -ليزين.....5غ
ثيوسولفات الصوديوم..... 6,8غ
سترات الأمنيوم- حديد(III)..... 0,8غ
احمر الفينول..... 0,08غ
ديسوكسيكولات الصوديوم.....1غ
هلام..... 9غ إلى 18غ [1]
ماء..... 1000ملل
[1] حسب قدرة تصلب الهلام.

ب. 2.1.4 التحضير :

تذوّب المكونات الأساسية المجففة أو الوسط الكامل المجفف في الماء، بالتسخين إذا اقتضى الأمر. يتجنب التسخين المبالغ.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي بعد التعقيم 7,4 ± 0,2 في 25° م بعد التعقيم.

يوزع الوسط الأساسي في أنابيب أو أوعية ذات سعة ملائمة (9.5).

يسخن بالرج مرارا إلى غاية غليان الوسط وذوبان الهلام. لا يجب الإفراط في التسخين.

ب. 2.4 تحضير علب الوسط الهلامي:

ينقل الوسط مباشرة في حمام مائي (5.5) مضبوط في 44° م إلى47° م، يرج ويسكب في العلب ثم يترك ليتصلب.

مباشرة قبل الاستعمال، تجفف علب الوسط الهلامي بعناية (من الأحسن بعد نزع الغطاء وقلب العلب) في جهاز التحضين (2.5) مضبوط بين 37° م و55° م حتى يجف سطح الهلام.

تخزن علب الهلام إلى غاية خمسة (5) أيام في 3 °م ± 2 °م.

ب.5 هلام مغذ :

ب.1.5 التركيب :

مستخلص اللحم.....3غ
بيبتون..... 5غ
هلام..... 9غ إلى18غ[1]
ماء..... 1000ملل
[1] حسب قدرة تصلب الهلام.

ب. 2.5 التحضير :

تذوّب المكونات المجففة أو الوسط الكامل المجفف في الماء، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني(pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 7 ± 0,2 في 25 ° م بعد التعقيم.

يوزع وسط الزرع في أنابيب أو قارورات ذات سعة ملائمة (9.5).

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121 ° م لمدة 15 دقيقة.

ب. 3.5 تحضير علب الوسط الهلامي المغذي:

يسكب حوالي 15 ملل من الوسط المذاب في علب بتري صغيرة معقمة (11.5) وتجرى العملية كما في ب.2.4.

ب. 6 هلام بسترات الحديد وثلاث سكريات (لهلام TSI):

ب. 1.6 التركيب:

مستخلص اللحم.....3غ
مستخلص الخميرة.....3غ
ببتون.....20غ
كلورور الصوديوم (NaCl).....5غ
لاكتوز.....10غ
ساكاروز.....10غ
غلوكوز.....1غ
سترات الحديد (III)..... 0,3غ
ثيوسولفات الصوديوم..... 0,3غ
أحمر الفينول..... 0,024غ
هلام..... 9غ إلى 18غ[1]
ماء..... 1000ملل
[1] حسب قدرة تصلب الهلام.

ب. 2.6 التحضير:

تذوّب المكوّنات أو الوسط الأساسي الكامل المجفف في الماء، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (PH) إذا اقتضى الأمر بحيث يساوي 7,4 ± 0,2 في 25 °م بعد التعقيم .

يوزع الوسط بكميات تقدر بـ 10ملل في أنابيب اختبار.

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121 °م لمدة 15 دقيقة.

تترك لترتاح في وضعية مائلة بحيث يتحصل على راسب سمكه من 2,5 سم إلى حوالي 5 سم.

ب. 7 هلام باليوريا (كريستنسن) (Christensen) :

ب. 1.7 الوسط الأساسي:

ب. 1.1.7 التركيب:

ببتون.....1غ
غلوكوز.....1غ
غكلورور الصوديوم(NaCl).....5غ
ثنائي هيدروجينو فوسفات البوتاسيوم (KH_2PO_4)..... 2غ
أحمرالفينول.....0,012غ
هلام..... 9 إلى 18غ[1]
ماء 1000ملل
[1] حسب قدرة تصلب الهلام،

ب. 2.1.7 التحضير :

تذوّب المكوّنات أو الوسط الأساسي الكامل المجفف في الماء، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 6,8 ± 0,2 في 25°م بعد التعقيم. تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121 °م لمدة 15 دقيقة.

ب. 2.7 محلول اليوريا :

ب.1.2.7 التركيب :

اليوريا 400غ
ماء، كمية كافية لحجم نهائي 1000ملل

ب. 2.2.7 التحضير :

تذوّب اليوريا في الماء، تعقم بالترشيح ويراقب التعقيم.

ب. 3.7 الوسط الكامل

ب. 1.3.7 التركيب :

الوسط الأساسي (ب.1.7)..... 950 ملل
محلول اليوريا (ب.2.7) ..... 50 ملل

ب. 2.3.7 التحضير :

يضاف محلول اليوريا بطريقة معقمة إلى الوسط الأساسي المذاب مسبقا وتعدّل درجة الحرارة بين 44° م و47° م.

يوزع الوسط الكامل، بكميات تقدر بـ 10 ملل في أنابيب معقمة (9.5).

تترك لترتاح في وضعية مائلة.

ب. 8 وسط لنزع الكربون لـ L-lysine :

ب. 1.8 التركيب:

أحادي هيدرو كلورور لـ L-lysine	5غ
مستخلص الخميرة	3غ
غلوكوز	1غ
بنفسجي البروموكريزول	0,015غ
ماء	1000ملل

ب. 2.8 التحضير:

تذوّب المكوّنات في الماء، بالتسخين إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 6,8 ± 0,2 في 25° م بعد التعقيم.

يوزع الوسط بكميات تقدر بـ 2 ملل إلى 5 ملل في أنابيب زرع ضيقة (9.5) مزودة بكبسولات لولبية.

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121° م لمدة 15 دقيقة.

ب. 9 كاشف للبحث عن β-غلاكتوزيداز -β galactosidase :

ب. 1.9 محلول مثبت:

ب. 1.1.9 التركيب:

ثنائي هيدروجينوفوسفات الصوديوم (NaH_2PO_4)	6,9غ
هيدروكسيد الصوديوم، محلول لـ 10مول/ل...حوالي 3 ملل ماء، كمية كافية لحجم نهائي	50 ملل

ب. 2.1.9 التحضير:

يذوّب ثنائي هيدروجينوفوسفات الصوديوم في حوالي 45 ملل من الماء في حوجلة مدرجة.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) في7 ± 0,2 في 25°م بواسطة محلول هيدروكسيد الصوديوم.

يكمل بالماء حتى 50 ملل.

ب. 2.9 محلول الـ o - نتروفينيل β - D غلاكتوزيداز(ONPG) :

ب. 1.2.9 التركيب :

o- نتروفينيل β-D غلاكتوزيداز (ONPG)	0,08 ملل
ماء	15ملل

ب. 2.2.9 التحضير:

يذوّب محلول الـ ONPG في الماء درجة حرارته حوالي 50° م.

يبرّد المحلول.

ب. 3.9 كاشف كامل :

ب. 1.3.9 التركيب :

محلول مثبت (ب.1.9)	5 ملل
محلول الـ (ONPG)(ب.2.9)	15 ملل

ب. 2.3.9 التحضير:

يضاف المحلول المثبت إلى محلول ONPG.

ب. 10 كواشف لتفاعل Voges- Proskauer (VP):

ب. 1.10 محلول VP :

ب. 1.1.10 التركيب :

ببتون	7غ
غلوكوز	5غ
ثنائي البوتاسيوم هيدروجينوفوسفات (K_2HPO_4)	5غ
ماء	1000ملل

ب. 2.1.10 التحضير:

تذوّب المكوّنات في الماء، بالتسخين إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي 6,9 ± 0,2 في 25 ° م بعد التعقيم.

ينقل الوسط في أنابيب بكميات تقدر بـ 3ملل في كل أنبوب (9.5).

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121°م لمدة 15 دقيقة.

ب. 2.10 محلول الكرياتين (N- amidinosarcosine) :

ب. 1.2.10 التركيب :

كرياتين أحادي الهيدرات.....0,5غ
ماء..... 100ملل

ب. 2.2.10 التحضير:

تذوّب الكرياتين أحادي الهيدرات في الماء.

ب. 3.10 محلول إثانولي النافتول-1 (solution éthanolique de naphtol-1)

ب. 1.3.10 التركيب:

نافتول-1 ..... 6غ
إثانول لـ 96% (جزء كتلي).....100ملل

ب. 2.3.10 التحضير:

يذوّب النافتول - 1 في الإثانول.

ب. 4.10 محلول هيدروكسيد البوتاسيوم :

ب. 1.4.10 التركيب :

هيدروكسيد البوتاسيوم 40غ
ماء.....100ملل

ب. 2.4.10 التحضير:

يذوّب هيدروكسيد البوتاسيوم في الماء.

ب. 11 كواشف للبحث عن الأندول:

ب. 1.11 وسط تريبتون/ تريبتوفان :

ب. 1.1.11 التركيب:

تريبتون.....10غ
كلورور الصوديوم (NaCl)..... 5غ
DL تريبتوفان..... 1غ
ماء.....1000ملل

ب. 2.1.11 التحضير:

تذوّب المكونات في ماء يغلي.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي بعد التعقيم 7,5 ± 0,2 في 25°م.

يوزع الوسط، بكميات تقدر بـ 5 ملل في أنابيب (9.5).

تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121°م لمدة 15 دقيقة.

ب. 2.11 كاشف كوفاكس (KOVACS) :

ب. 1.2.11 التركيب:

ثنائي مثيل أمينو- 4 بنزلدهيد.....5غ
حمض الكلوريدريك،
ρ= 1,18غ/ملل إلى 1,19غ/ملل..... 25ملل
مثيل - 2بوتانول-2 .....75ملل

ب. 2.2.11 التحضير:

تخلط المكوّنات.

ب. 12 هلام مغذٍ نصف صلب:

ب. 1.12 التركيب:

مستخلص اللحم.....3غ
ببتون.....5غ
هلام..... 4غ إلى 9غ (1)
ماء..... 1000ملل

(1) حسب قدرة تصلب الهلام.

ب. 2.12 التحضير:

تذوّب المكونات في الماء، بالتسخين، إذا اقتضى الأمر.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25° م.

يوزع الوسط في أنابيب ذات سعة ملائمة (9.5). تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121°م لمدة 15 دقيقة.

ب. 3.12 تحضير علب الوسط الهلامي :

يوزع الوسط حديث التحضير بكميات تقدر بحوالي 15 ملل، في علب بتري صغيرة ومعقمة (11.5). لا يجب أن تجفف علب الوسط الهلامي.

ب. 13محلول ملحي فيزيولوجي :

ب. 1.13 التركيب :

كلورور الصوديوم (NaCl) 8,5غ
ماء..... 1000ملل

ب. 2.13 التحضير:

يذوّب كلورور الصوديوم في الماء.

يضبط العامل الهيدروجيني (pH) إذا اقتضى الأمر، بحيث يساوي بعد التعقيم 7 ± 0,2 في 25 °م.

يوزع الوسط في قارورات أو في أنابيب (9.5) بحيث تحتوي بعد التعقيم على 90 ملل إلى 100 ملل من المحلول. تعقم في جهاز التعقيم (1.5) مضبوط في 121° م لمدة 15 دقيقة.